

6. Carnes M.G., Wright M.S. Endogenous hormone levels of immature corn kernels of A188, missouri-17, and DeKalb XL-12. *Article in Plant Science*, 1988, 57(3):195-203.

7. Investigation of the response of bread wheat cultivars to salinity by using callus culture. 2005. / T. Dokuyucu, S. Akke-ceci, A. Akkaya [at el] // *J. Environ. Biol.* - 2005. - Vol. 26. - N 2, 251-255

ИЗМЕНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНГИБИТОРОВ ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО)ПОЛИМЕРАЗЫ 1 В ЯДРАХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ IN VIVO ДЕЙСТВИЯ ЦИСПЛАТИНА

Асатрян Ануш Леоновна¹,

¹научный сотрудник,

Ереванский государственный университет

Арируни Ирина Гегамовна²,

Матинян Карине Степановна²

²к.б.н. доцент кафедры биофизики,

Ереванский государственный университет

Геворкян Эмиль Сосевич³

³д.б.н., профессор кафедры биофизики,

Ереванский государственный университет

АННОТАЦИЯ

Ингибиторы поли(АДФ-рибозо)полимеразы 1 (ПАРП 1) проходят клинические испытания и применяются в химиотерапии онкологических заболеваний совместно с цисплатином. Настоящая работа посвящена исследованию действия цисплатина на эффективность ингибирования ПАРП 1 в ядрах клеток печени крыс конкурентным (бензамид) и аллостерическим (АТФ) ингибиторами. Исследования проводились на крысах двух возрастных групп, наиболее часто используемых в фармакологических тестах (самцы, 6 и 10 недель). Показано, что активность ПАРП 1 значительно уменьшается в процессе взросления животного. Введение крысам цисплатина вызывает разнонаправленное изменение активности ПАРП 1 у животных исследуемых возрастных групп. Полученные результаты показывают, что степень ингибирования фермента АТФ зависит от его исходной активности. Введение животным цисплатина не вызывает изменения эффективности АТФ в ядрах 6-и недельных крыс, одновременно резко увеличивая ее у 10-и недельных животных. Исследование действия конкурентного ингибитора ПАРП 1 бензамида выявило большую эффективность у крыс старшей возрастной группы, как в контроле, так и после действия цисплатина.

Результаты настоящей работы указывают на необходимость коррекции химиотерапевтических схем с учетом возрастных особенностей действия ингибиторов ПАРП 1 различной природы.

ABSTRACT

Poly(ADP-ribose)yl polymerase 1 (PARP 1) inhibitors currently enter clinical trials and are co-administrated with cisplatin in treatment of patients with oncological diseases.

In present paper we investigated the impact of cisplatin on efficacy of PARP 1 inhibition by competing (benzamide) and allosteric inhibitor (ATP) in rat liver nuclei. The rats of two different age groups (males, 6 and 10 week old) were examined (these age groups are examined in routine pharmacological testing). The results come to show that PARP 1 activity is down-regulated in the course of animals growth. The in vivo treatment of rats with cisplatin elicited oppositely directed changes in PARP 1 activity estimated for different age groups. It was demonstrated that the extent of inhibition by ATP depended on the baseline activity of enzyme. Administration of cisplatin to 6 wk old animals did not affect ATP efficiency, concomitantly enhancing the latter in 10 wk old rats. Examination of PARP 1 inhibition by competing inhibitor benzamide revealed its elevated efficiency in elder rats regardless to treatment with cisplatin.

Results of present study necessitate further correction of chemotherapeutic schemes which should consider age-dependent variables in PARP 1 inhibition by different inhibitors.

Ключевые слова: активность ПАРП 1, ингибирование, АТФ, бензамид, цисплатин

Keywords: PARP 1 activity, inhibition, ATP, benzamide, cisplatin

Введение

Поли(АДФ-рибозо)полимераза 1 (ПАРП 1) является хроматин-ассоциированным ферментом, задействованным практически во всех известных механизмах репарации ДНК, и подавление его активности приводит к усилению терапевтического эффекта ДНК-алкилирующих препаратов, применяемых в лечении онкологических больных. В настоящее время ингибиторы ПАРП 1 проходят клинические испытания различных уровней, а при лечении BRCA-дефицитных опухолей применя-

ются в качестве монотерапевтических агентов. Ингибиторы ПАРП 1 часто применяются совместно с цисплатином и темозоламидом [1,2]. Известно, что терапевтический эффект, как и токсическое действие лекарственных препаратов, имеет выраженную возрастную зависимость. Однако действие фармакологических ингибиторов ПАРП 1 в этом контексте мало изучено. Настоящее исследование направлено на изучение действия конкурентного ингибитора ПАРП 1- бензамида и аллостерического ингибитора-АТФ на активность ПАРП 1 ядер клеток печени крыс 6-и и 10-и недельного возраста

после введения животным цисплатина. Выбор возрастных групп обусловлен тем, что фармакологическое тестирование препаратов производится на животных указанных возрастных групп [3].

Материал и методы

В работе использованы реактивы фирмы Sigma (США). В качестве экспериментальных животных служили самцы белых беспородных крыс 6-и и 10-и недельного возраста. Раствор цисплатина вводили внутривенно (10 мг/1000г веса животного). Животных декапитировали через 48 часов после инъекции препарата. Выделение ядер клеток печени производили по модифицированному методу [4]. Активность ПАРП 1 измеряли по убыли субстрата (НАД⁺) в реакционной среде, содержащей изолированные ядра клеток печени (плотность ядерной суспензии составляла 1 мг/мл по ДНК), 1 мМ СаСl₂, 6 мМ MgСl₂ в течение 10 мин. Реакцию инициировали добавлением НАД⁺ к суспензии ядер. Через 10 мин реакцию останавливали путем осаждения ядер из реакционной среды центрифугированием (2 мин 8000 г.). Количество остаточного НАД⁺ определяли в образцах надосадочной жидкости (50 мкл) по методу колориметрического определения окрашенного продукта реакции НАД⁺ с ацетофеноном (поглощение 378 нм) [5]. Количество НАД⁺ определяли по калибровочной кривой.

Достоверность различий между средними величинами полученных данных определяли по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Выбор экспериментальной модели в данной работе определялся следующими соображениями. ПАРП 1 является ядерным ферментом, и действие ингибиторов ПАРП 1 на изолированные ядра позволяет исключить влияние неконтролируемого изменения активности ПАРП 1, вызванного действием бензамида, АТФ и цисплатина на гликолитический обмен. Действие ингибиторов фермента в интактных ядрах наиболее приближено к реальной ситуации *in vivo* [6,7,8].

Известно, что активность ПАРП 1 складывается из двух составляющих: транс-каталитической и авто-каталитической компонент. Подавляющее большинство применяемых фармакологических ингибиторов ПАРП 1 являются НАД⁺-конкурирующими веществами, ингибирующими общую активность фермента. Ранее в системе *in vitro* было показано, что АТФ, будучи аллостерическим ингибитором, специфически подавляет авто-каталитическую активность ПАРП 1 [9,10]. Полученные нами данные выявили возрастные различия исходной активности ПАРП 1 ядер клеток печени крыс. Как видно из рисунка 1, активность ПАРП 1 10-и недельных крыс в 3 раза ниже активности фермента ядер 6-и недельных животных. Введение крысам цисплатина вызывает разнонаправленное изменение активности ПАРП 1 у животных исследуемых возрастных групп.

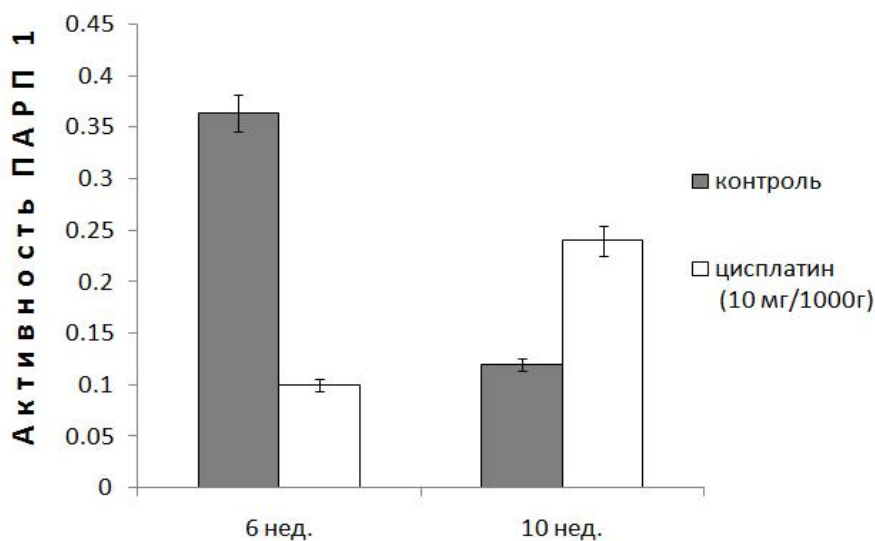


Рисунок 1. Действие цисплатина (10 мг/1000г, 48ч) на активность ПАРП 1 в ядрах клеток печени 6-и и 10-и недельных крыс

В следующей серии экспериментов нами было исследовано действие физиологических концентраций аллостерического ингибитора АТФ на активность ПАРП 1. Была показана концентрационная

зависимость ингибиции ПАРП 1. Полученные результаты показывают также, что степень ингибирования фермента зависит от его исходной активности. Так, эффективность АТФ значительно ниже у 10-и недельных крыс (рис. 2).

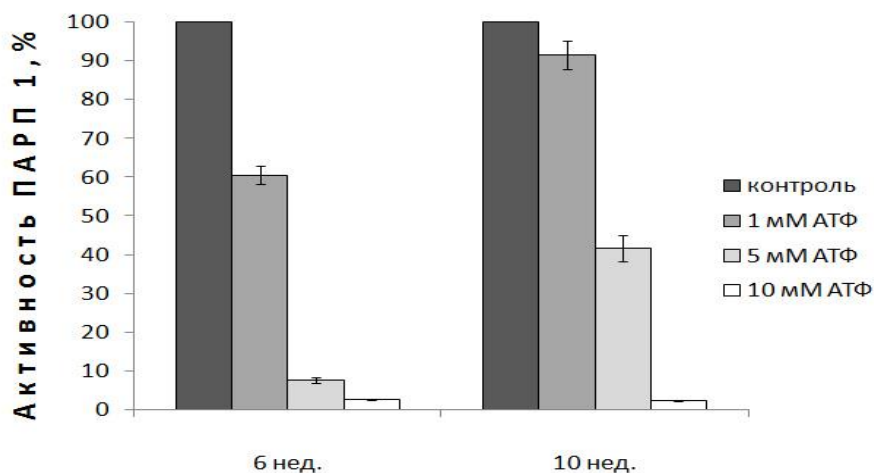


Рисунок 2. Действие физиологических концентраций АТФ на активность ПАРП 1 в ядрах клеток печени 6-и и 10-и недельных крыс

Введение животным цисплатина не вызывает изменения эффективности АТФ в ядрах 6-и недельных крыс, одновременно резко увеличивая ее у 10-и недельных крыс (рис. 3).

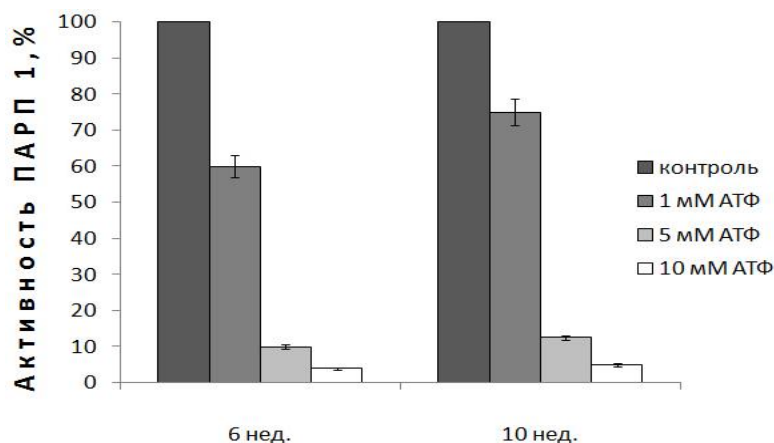


Рисунок 3. Действие физиологических концентраций АТФ на активность ПАРП 1 в ядрах клеток печени 6-и и 10-и недельных крыс после введения цисплатина (10мг/1000г).

Исследование действия конкурентного ингибитора ПАРП 1 бензамида выявило большую эффективность у крыс старшей возрастной группы,

как в контроле, так и после действия цисплатина (рис.4).

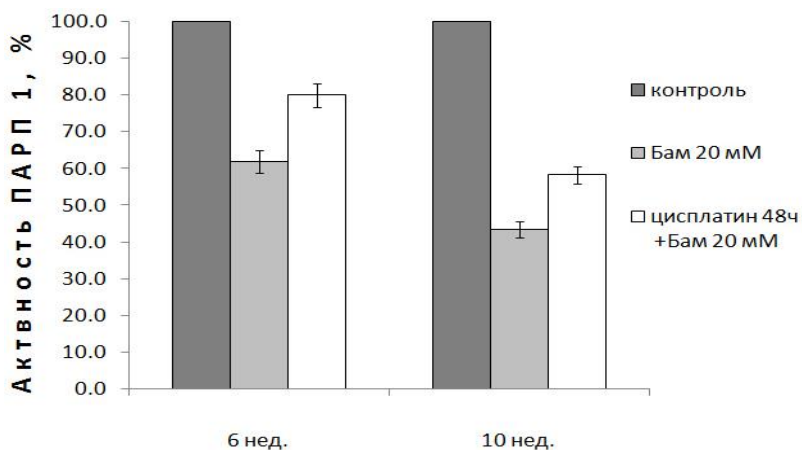


Рисунок 4. Действие бензамида на активность ПАРП 1 в ядрах клеток печени 6-и и 10-и недельных крыс в контроле и после введения цисплатина (10мг/1000г)

Таким образом, представленные в настоящей работе данные показывают, что эффективность ингибирования ПАРП 1 в ядрах клеток печени зависит от возраста крыс, характера применяемого ингибитора и действия цисплатина.

Результаты настоящей работы указывают на необходимость коррекции химиотерапевтических схем с учетом возрастных особенностей действия ингибиторов ПАРП1 различной природы.

Список литературы

1. Clark C.C., Weitzel J.N., O'Connor T.R. Enhancement of synthetic lethality via combinations of ABT-888, a PARP inhibitor, and carboplatin in vitro and in vivo using BRCA1 and BRCA2 isogenic models. *Mol Cancer Ther* 11, 2012-p. 1948–58.

2. Delaney C.A., Wang L.Z., Kyle S., White A.W., Calvert A.H., Curtin N.J., et al. Potentiation of temozolomide and topotecan growth inhibition and cytotoxicity by novel poly(adenosine diphosphoribose) polymerase inhibitors in a panel of human tumor cell lines. *Clin Cancer Res* 6, 2000 - p.2860–7.

3. Kwekel J.C., Desai V.G., Moland C. L., Branham W.S., Fuscoe J.C. Age and sex dependent changes in liver gene expression during life cycle of the rat. *BMC Genomics* 11, 2010-p.675.

4. Hewish D.R., Burgoyne L.A. Chromatin Substructure, The Digestion of Chromatin DNA at Regularly Spaced Sites by a Nuclear Deoxyribonuclease. *Biochemical and Biophysical Res. Com* 52, 1973-p.504-510.

5. Putta K.S. and Hergenrother P.J. An enzymatic assay for poly(ADP - ribose) polymerase – 1 (PARP-1) via the chemical quantitation of NAD⁺: application to the high-throughput screening of small molecules as potential inhibitors. *Analytical Biochemistry* 326, 2004-p.78 – 86.

6. Peralta-Leal A., Rodríguez-Vargas J., Aguilar-Quesada R., Rodríguez M. I., Linares J.L., de Almodóvar M. R., Oliver F. J PARP inhibitors: New partners in the therapy of cancer and inflammatory diseases, *Free Radic.Biol. Med.* 2009-doi:10.1016/j.freeradbiomed.2009.04.008.

7. X. Luo, W. L. Kraus On PAR with PARP: cellular stress signaling through poly(ADP-ribose) and PARP-1. *GENES & DEVELOPMENT* 26, 2012 - p. 417–432.

8. A. Burkle. Poly(ADP-ribose) The most elaborate metabolite of NAD⁺, *FEBS Journal* 272, 2005 - p.4576–4589.

9. Kun E., Kirsten E., Mendeleyev J., Ordahl Ch.P. Regulation of the Enzymatic Catalysis of Poly(ADP-ribose) Polymerase by dsDNA, Polyamines, Mg²⁺, Ca²⁺, Histones H1 and H3, and ATP. *Biochemistry* 43, 2004 - p. 210-216.

10. Krishnakumar R., Kraus W.L. The PARP Side of the Nucleus: Molecular actions, Physiological Outcomes and Clinical Targets, *Molecular Cell* 39, 2010 - p. 8-24.

УДК 54.03/54.04/615.322

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ РАЗНЫХ ЧАСТЕЙ ПЫРЕЯ ПОЛЗУЧЕГО

Елевсюзова Айгерим Толеугазиевна

Магистрант 2 курса;

Аралбаева Арайлым Нугмановна

К.б.н, доцент кафедры пищевой биотехнологии

Факультета пищевых производств Алматинского технологического университета,

г. Алматы, Республика Казахстан

АННОТАЦИЯ

В статье представлены исследования аминокислотного состава разных частей пырея ползучего. Объектами исследования являлись стебли, корневища и семена пырея ползучего. Приведены данные исследований аминокислотного состава и оценки биологической ценности белков по аминокислотному скору. На основе полученных данных можно заключить, что семена пырея ползучего обладают высокой биологической ценностью.

В результате исследований выявлено, что биологическая ценность пырея определяется высоким содержанием аминокислоты треонин, тогда как лимитирующей аминокислотой представляется метионин.

ANNOTATION

The article presents studies of the amino acid composition of different parts of the creeping Wheatgrass. The objects of study were stems, rhizomes and seeds of Wheatgrass. The data of studies of amino acid composition and evaluation of the biological value of proteins in amino acid score. Based on the data obtained, it can be concluded that the seeds of creeping Wheatgrass have high biological value. As a result of research it was revealed that the biological value of Wheatgrass is determined by the high content of the amino acid threonine, while the limiting amino acid is methionine.

Ключевые слова: пырей ползучий, биологическая ценность, аминокислотный состав, аминокислотный скор.

Key words: creeping Wheatgrass, biological value, amino acid composition, amino acid fast.